

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 849**

51 Int. Cl.:

A61K 51/12 (2006.01)

A61K 51/02 (2006.01)

A61K 103/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2006 E 06721434 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 1877105**

54 Título: **Método de formación de una composición radioactiva inyectable de partículas radioactivas encapsuladas en carbono**

30 Prioridad:

29.04.2005 AU 2005902180

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

17.12.2013

73 Titular/es:

**THE AUSTRALIAN NATIONAL UNIVERSITY
(100.0%)
Acton, ACT 0200 , AU**

72 Inventor/es:

**BROWITT, RODNEY, JAMES;
BURCH, WILLIAM, MARTIN;
SENDEN, TIMOTHY, JOHN y
STEPHENS, ROSS, WENTWORTH**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 434 849 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de formación de una composición radioactiva inyectable de partículas radioactivas encapsuladas en carbono.

Campo de la Invención

[0001] La presente invención es referente a métodos para la producción de composiciones radioactivas inyectables. En un aspecto, la presente invención es referente a métodos de producción de composiciones de tecnecio radioactivas inyectables.

Antecedentes de la Invención

[0002] Los métodos para la producción de compuestos de nanopartículas etiquetados con tecnecio encapsulado en carbono son bien conocidos. Se ha encontrado que estos compuestos exhiben avidez por la fibrina (fibrinógeno) y por lo tanto se incorporan y etiquetan coágulos de fibrina. La solicitud PCT PCT/AU98/00582 (WO99/04827) (también concedida el 20 de diciembre de 2005 como Patente N ° 6.977.068 en Estados Unidos) da a conocer un método para el uso de esta propiedad en la detección de coágulos de fibrina. Por lo tanto, los compuestos de nanopartículas etiquetados con tecnecio tienen un valor especial en el diagnóstico por imagen así como potencial para la terapia dirigida.

[0003] La patente N ° 5.228.444 de EE.UU. a Burch titulada "Dispositivo para la Producción de Composición de Radionucleidos de Gas Ligero" da a conocer un método y un aparato para la producción de tales radionucleidos. Concretamente, se describe un crisol de carbono calentado a una temperatura de entre 1.500 ° y 2.500 ° Celsius. Posteriormente se averiguó que el aerosol resultante consistía en el compuesto de nanopartículas descrito por Senden y otros (J. Med. Nuclear 38:1327-33, 1997), quienes también informaron de una incorporación de otros isótopos.

[0004] La patente N ° 5.792.241 de EE.UU. a Browitt titulada "Precipitador" da a conocer un método y un aparato para dispersar el compuesto de nanopartículas en un medio acuoso.

[0005] Por consiguiente, el proceso de producción del compuesto puede efectuarse como se ilustra esquemáticamente en la Figura 1 en la que un dispositivo de producción de aerosol de tecnecio adecuadamente modificado (2) como se describe en la patente N ° 5.228.444 de EE.UU. se utiliza en conjunción con una fuente de gas argón (3) para la salida de tecnecio en forma de aerosol. Posteriormente, esto es dispersado (5) en agua de acuerdo como se enseña en la patente N ° 5.792.241 de EE.UU. La disposición de la Figura. 1 es analizada más adelante en la Patente No. 5.792.241 de EE.UU.

Objeto de la Invención

[0006] Es objeto de la presente invención proporcionar un método mejorado de formar una composición radioactiva inyectable que pueda ser adecuada como agente inyectable en imágenes de diagnóstico médico o para proporcionar una alternativa a la técnica anterior

Resumen de la invención

[0007] Se proporciona un método para la formación de una composición radioactiva inyectable, comprendiendo este los siguientes pasos:

- (a) depositar una forma sólida de isótopo radiactivo y portador en un crisol de carbono;
- (b) precalentar la forma sólida de isótopo radiactivo y portador para quitar el portador;
- (c) ablación con plasma de la partícula radioactiva y porciones del crisol de carbono,

en que dicho precalentamiento se produzca entre 1.200 y 1.800 grados Celsius entre 5 y 25 segundos sustancialmente.

[0008] El paso (c) puede comprender:

- (c) ablación con plasma de la partícula radioactiva y las porciones del crisol de carbono para formar un compuesto de nanopartículas de carbón encapsulado con un núcleo de partículas radioactivas en forma de aerosol.

[0009] El método puede comprender además:

- (d) la dispersión del compuesto de nanopartículas en un medio acuoso que conste de una baja concentración de surfactante.

- 5 **[0010]** La composición de inyectable radiactivo puede ser farmacéuticamente aceptable. La composición de radiactivo inyectable puede ser veterinariamente aceptable cuando esté destinado a ser inyectado en un animal (por ejemplo un mamífero no humano). El surfactante puede constar de sodio desoxicolato o cualquier otro(s) surfactante(s) adecuado(s) para inyección intravenosa. El surfactante puede ser uno farmacéuticamente aceptable.
- 10 **[0011]** El método también puede incluir el paso de almacenar el material compuesto de nanopartículas dispersas con un no electrolito sustancial.
- 15 **[0012]** El no electrolito sustancial puede ser por ejemplo, 5 % de glucosa tal y como se utiliza comúnmente en aplicaciones intravenosas clínicas. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el tiempo de almacenamiento está limitado debido al deterioro de los isótopos. La vida media de deterioro de isótopos en tecnecio es de sólo 6 horas.
- 20 **[0013]** La concentración iónica de la dispersión almacenada no debe superar el equivalente de un milimolar de cloruro sódico (por ejemplo, puede ser de 0,25 a 1 milimolar, 0,29 a 0,7 milimolar o 0,3 a 0,5 milimolar). Como ejemplo de la presente invención, la concentración iónica de la dispersión del compuesto de nanopartículas almacenado se deriva de 300 micromolares de sodio dihidrógeno citrato a un pH de 4,1, con 10 micromolares de sodio desoxicolato. El sodio desoxicolato puede estar en el intervalo de aproximadamente 2 a 100, de aproximadamente 5 a 50, aproximadamente 7 a 20, o aproximadamente 8 a 15 micromolares de sodio desoxicolato.
- 25 **[0014]** El método también puede incluir el paso de almacenar el material precipitado en una baja concentración de solución tampón. La solución tampón puede ser débilmente ácida, como de 200 a 400 micromolares de sodio dihidrógeno citrato o 300 micromolares de sodio dihidrógeno citrato a un pH de 4,1.
- 30 **[0015]** El paso de almacenar el material precipitado puede realizarse en una solución tampón que tenga un pH adecuado. El pH puede estar en el intervalo de aproximadamente 3,0 a 7,5, aproximadamente 3,0 a 7,0, aproximadamente 3,5 a 7,0, aproximadamente 4,0 a 7,0, aproximadamente 4,0 a 7,0, aproximadamente 4,0 a 6,5, aproximadamente 4,0 a 6,0, aproximadamente 4,0 a 5,5, aproximadamente 4,0 a 5,0, o aproximadamente 4,0 a 4,5. El pH del tampón ácido también puede ser de aproximadamente 3,5, aproximadamente 4,0, aproximadamente 4,5, aproximadamente 5,0, aproximadamente 5,5, aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 6,6, aproximadamente 6,7, aproximadamente 6,8, aproximadamente 6,9, aproximadamente 7,0, aproximadamente 7,1, aproximadamente 7,2, aproximadamente 7,3, aproximadamente 7,4, o aproximadamente 7,5.
- 35 **[0016]** El método también puede incluir el fraccionamiento por tamaño de las nanopartículas por filtración a través de membranas hidrófilas de tamaño de poro conocido. Los filtros adecuados que puedan ser usados en la filtración de las nanopartículas son aquellas membranas hidrófilas con cortes nominales de unos 800 nanómetros, unos 470 nanómetros y unos 220 nanómetros.
- 40 **[0017]** De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un método de formación de una composición radiactiva inyectable, comprendiendo el método los siguientes pasos:
- 45 (a) depositando una forma sólida de tecnecio y un portador en un crisol de carbono;
(b) precalentando la forma sólida de tecnecio y el portador para retirar el portador y
(c) ablación con plasma del tecnecio y porciones del crisol de carbono,
- dicho precalentamiento se encuentra sustancialmente en el rango de 1.200 ° a 1.800 ° Celsius para 5 a 25 segundos sustancialmente.
- 50 **[0018]** El paso (c) puede comprender:
- (c) ablación con plasma del tecnecio y porciones del crisol de carbono para formar un compuesto de nanopartículas de carbono encapsulado con un núcleo de partículas de tecnecio radiactivo en forma de aerosol.
- 55 **[0019]** El método puede comprender además:
- (d) dispersión del compuesto de nanopartículas en un medio acuoso que contenga una baja concentración de surfactante.
- 60 **[0020]** El método de la invención puede ser un método de formación de una composición radiactiva inyectable aceptable farmacéutica o veterinariamente.
- 65 **[0021]** La forma sólida de tecnecio puede ser pertecnato de sodio o cualquier forma insoluble de tecnecio producido durante el proceso electrolítico tal como se describe en este documento, por ejemplo, oxiclорuros insolubles. El tecnecio puede estar en la forma de un isótopo radiactivo de tecnecio.

[0022] Un ejemplo de un isótopo radiactivo de la presente invención es tecnecio, específicamente ^{99m}Tc , pero este no es exclusivo, tal y como es demostrado por Senden y otros (mencionados arriba) y la incorporación de otros radioisótopos o radionúclidos puede ser realizada. Otros isótopos radiactivos adecuados incluyen ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{113}mIn , o ^{111}In . ^{198}Au , ^{64}Cu , ^{213}Bi , ^{57}Co , ^{51}Cr , ^{165}Dy , ^{169}Er , ^{59}Fe , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{153}Gd , ^{166}Ho , ^{111}In , ^{113}mIn , ^{177}Lu , ^{23}Na , ^{24}Na , ^{103}Pd , ^{81}Rb , ^{82}Rb , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{75}Se , ^{153}Sm , ^{117}mSn , ^{89}Sr , ^{201}Th , ^{90}Y , ^{169}Yb .

[0023] El paso (a) del primer aspecto de la presente invención también pueden incluir una concentración electrolítica del radioisótopo con el crisol de carbono que actúa como un cátodo de una celda electrolítica y un ánodo que puede comprender un alambre de platino colocado en una cavidad formada por dicho crisol.

[0024] La concentración química absoluta de isótopo Tc eluido de un generador de descomposición de molibdeno es del orden picomolar. Por lo tanto en concentraciones de uso común de isótopo se citan como radiactividad, en este caso dentro del rango de milicurios. La carga de Tc puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 a 100 mCi (o de aproximadamente 0,2 a 4 GBq).

[0025] La carga Tc también puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 a 100 mCi, aproximadamente 5 a 100 mCi, aproximadamente 7,5 a 95 mCi, aproximadamente 10 a 90 mCi, aproximadamente 15 a 85 mCi, aproximadamente 20 a 80 mCi, aproximadamente 25 a 75 mCi, aproximadamente 30 a 70 mCi, aproximadamente 35 a 65 mCi, aproximadamente 40 a 60 mCi, aproximadamente 45 a 55 mCi, o aproximadamente 50 a 55 mCi.

[0026] El paso del precalentamiento (b) puede estar a una temperatura suficiente para evaporar el portador, por ejemplo cloruro de sodio, pero insuficiente para eliminar el radionúclido o radioisótopo, por ejemplo un compuesto de tecnecio. El paso del precalentamiento (b) es a una temperatura sustancialmente dentro del rango de 1.200°C a 1.800°C y puede estar a una temperatura sustancialmente dentro del rango de aproximadamente 1.250°C a 1.800°C , aproximadamente 1.300°C a 1.800°C , aproximadamente 1.350°C a 1.800°C , aproximadamente 1.400°C a 1.750°C , aproximadamente 1.450°C a 1.750°C , aproximadamente 1.500°C a 1.700°C , aproximadamente 1.550°C a 1.700°C , aproximadamente 1.600°C a 1.700°C y aproximadamente 1.650°C a 1.700°C .

[0027] El paso del precalentamiento (b) se lleva a cabo durante un período de tiempo en el intervalo de sustancialmente 5,0 a 25 segundos y puede ser llevado a cabo durante un período de tiempo en el intervalo de aproximadamente 5,0 a 20 segundos, de aproximadamente 7,5 a 20 segundos, de aproximadamente 10,0 a 20 segundos, de aproximadamente 12,5 a 20 segundos, de aproximadamente 12,5 a 17,5 segundos, de aproximadamente 12,5 a 15,0 segundos, de aproximadamente 15,0 a 17,5 segundos, o de aproximadamente 15,0 segundos.

[0028] El paso del precalentamiento (b) puede llevarse a cabo durante un período de tiempo sustancialmente en el intervalo de aproximadamente 10 a 20 segundos, 12,5 a 17,5 segundos, 15 a 17,5 segundos, 12,5 a 15,0 o aproximadamente 15 segundos cuando el portador sea cloruro de sodio.

[0029] La temperatura de precalentamiento puede estar sustancialmente en el punto de ebullición del portador. La temperatura de precalentamiento puede estar en el rango de 1.300°C a 1.750°C , 1.400°C a 1.750°C , 1.500°C a 1.750°C , 1.600°C a 1.700°C , o sustancialmente a unos 1.685°C cuando el portador sea por ejemplo cloruro de sodio.

[0030] El tiempo necesario para alcanzar la temperatura de precalentamiento eficaz en condiciones ambientales (tiempo de elevación) puede ser desde aproximadamente 0,1 a 5 segundos, aproximadamente 0,15 a 4,5 segundos, aproximadamente 0,2 a 4,0 segundos, aproximadamente 0,25 a 3,5 segundos, aproximadamente 0,30 a 3,0 segundos, aproximadamente 0,35 a 3,0 segundos, aproximadamente 0,40 a 2,5 segundos, aproximadamente 0,4 a 2,0 segundos, aproximadamente 0,4 a 1,5 segundos, aproximadamente 0,45 a 1,5 segundos, aproximadamente 0,5 a 1,5 segundos, aproximadamente 0,75 a 1,5 segundos y de aproximadamente 1,0 a 1,5 segundos. El tiempo de elevación puede ser sustancialmente de 1 segundo, 1,1 segundos, 1,15 segundos, 1,2 segundos, 1,25 segundos, 1,3 segundos, 1,35 segundos, 1,4 segundos, 1,45 segundos, o 1,5 segundos.

[0031] El método puede funcionar en una atmósfera de un gas inerte o atmósfera inerte. El gas inerte o atmósfera inerte pueden componerse de argón, neón, helio o una mezcla de los mismos. El gas inerte o atmósfera inerte pueden ser argón, helio o una mezcla de los mismos y preferiblemente puede ser una atmósfera de argón.

[0032] El paso de ablación con plasma (c) se puede producir a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 2.000°C a 3.000°C , aproximadamente 2.100°C a 3.000°C , aproximadamente 2.200°C a 2.900°C , aproximadamente 2.300°C a 2.900°C , aproximadamente 2.400°C a 2.900°C , aproximadamente 2.500°C a 2.900°C , aproximadamente 2.600°C a 2.900°C , aproximadamente 2.700°C a 2.900°C , aproximadamente 2.700°C a 2.800°C , aproximadamente 2.700°C a 2.800°C y de aproximadamente 2.740°C a 2.790°C . La ablación puede producirse preferiblemente a aproximadamente 2.765°C .

[0033] El período de tiempo para el paso de ablación con plasma (c) puede ser de aproximadamente 1,0 a 5,0 segundos, 1,5 a aproximadamente 4,5 segundos, 2,0 a aproximadamente 4,0 segundos y aproximadamente de 2,5 a

3,5 segundos. El tiempo necesario para llegar a la temperatura de ablación efectiva puede ser de aproximadamente 0,1 a 0,5 segundos, 0,2 a aproximadamente 0,4 segundos o aproximadamente 0,3 segundos.

[0034] El método también puede comprender un paso (d) de precipitación de las partículas sometidas a ablación en un precipitador electrostático sonicador. El método también puede comprender el paso: (d) precipitar el producto aerosol en un precipitador electrostático sonicador. El precipitador puede incluir preferiblemente agua pura con una baja concentración de un surfactante adecuado. El surfactante puede ser sodio desoxicolato, pero puede ser también cualquier surfactante adecuado para inyección.

[0035] El método también puede incluir el paso de: almacenar el material precipitado en forma de dispersión acuosa con la adición de un no-electrolito sustancialmente. La dispersión puede ser almacenada en una baja concentración de tampón débilmente ácido, por ejemplo 300 micromolares de sodio dihidrógeno citrato a un pH de 4,1. El nivel de aniónico pertecnetato soluble presente como contaminante en el producto puede ser utilizado como una medida de calidad. La Cromatografía en Capa Fina (TLC) se puede utilizar para determinar el porcentaje de pertecnetato soluble con respecto a la radiactividad total (partículas más solubles) en el producto.

Breve descripción de los dibujos

[0036] La presente invención se describirá ahora con referencia a los dibujos adjuntos en los que: Figura 1 ilustra un proceso de producción del compuesto que contiene tecnecio de acuerdo con la presente invención;

Figura 2 ilustra los pasos implicados en la forma de realización de un método de acuerdo con la presente invención;

Figura 3 ilustra una vista ampliada de un crisol utilizado en un método de la presente invención;

Figura 4 es una vista en sección de un primer concentrador electrolítico utilizado en un método de la presente invención;

Figura 4a y Figura 4b ilustran con más detalle la interconexión del crisol con el cátodo en el concentrador electrolítico mostrado en la **Figura 4**;

Figura 5 es un gráfico que ilustra los resultados de precalentamiento del crisol en términos de porcentaje de pertecnetato liberado encontrado después del autoclave de la dispersión;

Figura 6 es un gráfico que ilustra los resultados del precalentamiento del crisol en el tamaño de las nanopartículas producidas;

Figura 7 ilustra el perfil de calentamiento por ablación;

Figura 8 ilustra esquemáticamente un precipitador utilizado en un método de la presente invención;

Figura 9 ilustra el efecto de concentraciones de cloruro sodico en el producto resultante de la dispersión de nanopartículas;

Figura 10 ilustra el efecto de concentraciones de tris-acetato y glucosa en el producto resultante de la dispersión de nanopartículas;

Figura 11 ilustra el efecto de la concentración de sodio de dihidrógeno citrato en el producto resultante de la dispersión de nanopartículas;

Figura 12 ilustra el efecto del pH sobre la estabilidad de las nanopartículas durante el autoclave;

Figura 13 ilustra el efecto de poliones en el producto de la dispersión de nanopartículas;

Figura 14 ilustra una vista en sección de un segundo concentrador electrolítico utilizado en otro método de la presente invención y

Figura 15 muestra dos gráficos de los resultados de 105 preparaciones FibrinLite utilizando el primer concentrador electrolítico como se muestra en la **Figura 4** y 19 preparados utilizando el segundo concentrador electrolítico como se muestra en la **Figura 14**.

Descripción de las realizaciones preferidas y otras

[0037] Se proporciona un método mejorado para la producción de composiciones de isótopos radiactivos tales como composiciones de tecnecio que tienen características mejoradas adecuadas para el diagnóstico médico por imagen mediante gammagrafía y por terapia de implicación a través de la encapsulación de otros isótopos.

[0038] Un ejemplo de un compuesto de tecnecio adecuado para la presente invención se describe en PCT/AU98/00582 (WO99/04827). El Technegas es un agente que consiste en una pluralidad de partículas discretas, cada una de ellas comprende una pluralidad de capas de recubrimiento de carbono (variando entre dos y diez átomos de espesor) que encierran completamente un cristal diminuto de metal de ^{99m}Tc. Las partículas son hidrófobas inertes estables con un diámetro de 10 a 500 nanómetros. FibrinLite contiene una dispersión acuosa de estas partículas que pueden ser fraccionadas por tamaño mediante filtros de membrana hidrofóbica de valores de corte nominales, por ejemplo 800 nm, 470 nm y 220 nm. Las partículas pueden ser sedimentadas mediante centrifugación de alta velocidad y redispersadas por agitación, permitiendo así una separación conveniente o un proceso de purificación. Las partículas en una dispersión de FibrinLite se conglomeran con una adición de electrolitos (véanse las Figuras 9, 10 y 11), permitiendo así la completa separación por filtración.

[0039] Los pasos del método descrito en la presente invención pueden ser como se ilustra en la **Figura 2**. El método **20** puede incluir un paso inicial de carga de un crisol con tecnecio **21**, el precalentamiento del crisol cargado **22**, la emisión de flash de las partículas Technegas **23**, la captura de partículas en agua **24** y la formulación por

inyección **25**. Cada uno de estos pasos se trata con detalle más adelante. Se ha encontrado que la pureza y el tamaño de las nanopartículas dependen grandemente de las condiciones de producción empleadas.

Paso 1: Carga del crisol (21)

[0040] Un isótopo de tecnecio está disponible comercialmente como pertecnetato de sodio eluido con solución salina a partir de la alúmina matriz de un generador de descomposición de molibdeno. La **figura 3** ilustra un crisol **30** del tipo descrito en la patente de EE.UU. 5.228.444 adecuado para la carga.

[0041] El isótopo de tecnecio en una solución salina puede ser utilizado para cargar un crisol de grafito adecuado mediante dos métodos:

Método de Evaporación: Si el eluido de generador de tecnecio tiene actividad específica suficiente, por ejemplo 100mCi/mL, seguidamente el crisol **30** puede ser cargado simplemente mediante la colocación de 100 microlitros de eluido de generador en el crisol **30** y evaporar la solución salina hasta el secado mediante el calentamiento resistivo cuidadosamente regulado del crisol **30**. Esta técnica se describe en la patente de EE.UU. 5.228.444.

Método de Concentrador Electrolítico: Este método permite que el isótopo que provenga de generadores de tecnecio tenga actividad de bajo eluido. Se encontró que las nanopartículas producidas a partir de este método tenían un nivel más bajo de contaminación de pertecnetato (por ejemplo <5 %) que el método de evaporación definido en la patente de EE.UU. 5.228.444.

[0042] La **figura 4** es una vista en sección de un concentrador electrolítico **33** utilizado en un método de la presente invención. Un crisol **34** forma un cátodo del concentrador electrolítico **33** y se coloca en un tapón de goma de silicona **35** dentro de una cámara **36** formada a partir de dos piezas acopladas **37, 38**. El crisol **34** se mantiene en su lugar por medio de un tope **39** y un tornillo de ajuste de presión **40**. El ánodo de la celda se compone de un alambre fino de platino **41** que se extiende hasta el centro del tubo de suministro de fluido. El tubo de suministro de fluido se comunica con un tubo de embudo Luer de entrada de líquido **43** a través de un inserto de policarbonato **44**. El ánodo está conectado a la fuente de alimentación a través de la inserción del tornillo **42**. La solución de isótopo salina es bombeada a la cámara **36** y sale a través del embudo Luer de salida **45** a un depósito (no se muestra) donde es recirculado. La capa exterior **37, 38** puede ser formada a partir de Teflón o materiales recubiertos de Teflón.

[0043] La **figura 4a** y la **figura 4b** ilustran la formación del cátodo del crisol con más detalle con la **figura 4a** ilustrando una vista lateral y la **figura 4b** ilustrando una vista desde arriba. El crisol **34** está interconectado a un contacto de alambre de platino **47** que se mantiene en su lugar en el crisol **34** mediante caucho de silicona **49**. El alambre está unido a un tornillo de contacto **48** el cual forma la entrada de fuente de alimentación negativa.

[0044] Utilizando el procedimiento descrito como un concentrador electrolítico, se encontró que el isótopo de tecnecio estaba concentrado sobre la superficie interior de un crisol de grafito mediante la acción combinada de la electrólisis y el bombeo continuo. Las especificaciones de funcionamiento pueden verse en la siguiente **Tabla I**:

Tabla I

Componente del Proceso	Parámetro	Rango	Valor Preferido
Carga del concentrador del crisol de grafito	Adición de etanol a la solución salina	15-40 %	30 %
	Flujo de electrolito transitando paredes del crisol	0,1-0,7 ml / min	0,33 ml / min
	Corriente constante a través de celda electrolítica	1-10 mA	5 mA
	Duración de electrólisis	10-60 min	30 min

[0045] El eluato de solución salina de un generador de tecnecio se hace circular continuamente a través de las paredes de un crisol de grafito poroso **34** bajo la presión de una bomba peristáltica. El crisol **34** forma el cátodo de una celda electrolítica y el ánodo consiste en un alambre fino de platino **41** colocado en la abertura del crisol **34**. El radionucleido se deposita sobre la superficie de grafito dentro de la abertura del crisol. La acumulación de radionucleido en el crisol **34** puede ser convenientemente supervisada por la pérdida de radiactividad del líquido circulante, por ejemplo con un contador Geiger colocado sobre unos bucles del circuito de tubos o adyacente al depósito de fluido.

[0046] El concentrador electrolítico **33a** es similar al concentrador electrolítico **33** a excepción de la provisión de un tubo de salida **50** que permite el flujo de solución salina fuera del crisol **34**. Los mismos números de referencia que para el primer concentrador electrolítico se utilizarán para denotar los elementos iguales o similares del segundo concentrador electrolítico **33a**.

[0047] El concentrador electrolítico **33a** permite la producción de FibrinLite con un nivel de contaminación de pertecnetato que es uniformemente más baja que la encontrada en preparaciones hechas con el primer concentrador electrolítico **33**. Esto es especialmente importante para la producción de FibrinLite, ya que algún pertecnetato adicional es liberado de las nanopartículas durante la esterilización por autoclave. El FibrinLite producido utilizando el segundo concentrador electrolítico de carga de crisol produce menos pertecnetato libre durante el autoclave y por lo tanto se cree que las nanopartículas tienen una mayor estabilidad al calor.

[0048] Los resultados superiores producidos por la carga del segundo concentrador electrolítico son atribuibles a un determinado proceso de acondicionamiento de la superficie del crisol. El acondicionamiento de la superficie del crisol **34** se consigue en el concentrador **33a** por un proceso electrolítico anterior a la carga con un radionúclido.

[0049] El uso de un concentrador electrolítico **33**, **33a** ya ha sido documentado como proveedor de tres características útiles en la producción tanto de TechneGas como de FibrinLite:

1) La concentración electrolítica de radionucleidos en el crisol de carbono permite el uso de fuentes considerablemente más débiles de isótopos de tecnecio, tanto a partir de generadores de descomposición de molibdeno, los cuales son fuentes más débiles para empezar, como también de generadores que son más débiles debido a la edad.

2) La concentración electrolítica del radionucleidos es selectiva en que no da lugar a la concentración de cloruro sodico portador en el crisol. Por el contrario, la concentración de radionucleidos en crisoles por múltiples cargas de evaporación concentra cloruro de sodio en una medida tal que la formación de costras de sal interfiere con una función adecuada del crisol.

3) La carga electrolítica del crisol de carbono produce TechneGas y FibrinLite con menor contaminación por pertecnetato no encapsulado libre.

[0050] El segundo concentrador electrolítico ofrece una mayor reducción de la contaminación de pertecnetato de FibrinLite, lo cual es particularmente notable después del autoclave.

[0051] La celda de flujo para el segundo concentrador electrolítico **33a** se muestra en la **figura 14**. El concentrador electrolítico **33a** comprende un crisol de carbono invertido **34** situado sobre un electrodo de alambre de aguja de platino colocado en el centro **41**, como también se muestra en el primer concentrador electrolítico **33** (ver **Figura 4**). Sin embargo, en el segundo concentrador electrolítico **33a**, un tubo fino de salida **50** se coloca dentro de una cavidad de crisol que se define por el crisol de carbono invertido **41** y el tapón de goma de silicona **35**, de tal manera que un primer extremo del tubo **50** está situado justo debajo de la parte superior de la cavidad del crisol y un segundo extremo está situado debajo de la base de la cavidad del crisol. Durante su uso, el fluido sale de la cavidad del crisol justo debajo de la parte de techo o la parte superior de la cavidad del crisol y fluye a través del tapón de goma de silicona **35** para salir por el segundo extremo del mismo al interior de la cámara **36**. Esto permite mayores velocidades de flujo de fluido a través de la celda sin la necesidad de tránsito forzado a través de las paredes porosas de grafito del crisol como se requiere en el primer concentrador electrolítico **33** como se muestra en la **Figura 4**.

[0052] El segundo concentrador electrolítico **33a** de la presente invención permite la producción de FibrinLite con un nivel de contaminación de pertecnetato que es uniformemente más baja que la encontrada en preparaciones hechas con el primer concentrador electrolítico **33**. Esto es especialmente importante para la producción de FibrinLite, ya que un poco de pertecnetato adicional es liberado a partir de las nanopartículas durante la esterilización por autoclave. El FibrinLite producido usando carga de crisol del segundo concentrador de electrolíticos **33a** produce resultados en menos pertecnetato libre en autoclave y por lo tanto se cree que las nanopartículas tienen una mayor estabilidad al calor.

[0053] Los resultados superiores producidos por la carga de crisol del segundo concentrador electrolítico **33a** son atribuibles a un proceso de acondicionamiento particular para la superficie del crisol **34**. El acondicionamiento de la superficie del crisol **34** es alcanzado en el concentrador electrolítico **33a** por un proceso electrolítico anterior a la carga con el radionucleido.

[0054] El segundo concentrador electrolítico **33a** permite el uso de mayores densidades de corriente, como se requiere para el acondicionamiento de la superficie del crisol, por lo que permite velocidades de flujo más rápido de solución salina a través de la celda. En el primer concentrador electrolítico **33**, el radio de flujo rápido del concentrador no se puede obtener debido a la necesidad de solución salina para salir a través de las paredes porosas de grafito del crisol **34**. El tubo de salida de la solución salina **50** debe colocarse cerca, pero sin tocar, de la parte del techo o la parte superior de la celda (es decir la base del crisol invertido) y debe estar hecho de un polímero no conductor resistente al calor.

[0055] Antes de la carga, la superficie del crisol **34** se trata en primer lugar electrolíticamente en el segundo concentrador electrolítico **33a**, de tal manera que la superficie de grafito del crisol **34** este condicionada para proporcionar un área efectiva más grande de carbono para la deposición de un radionucleido. Para lograr este efecto, se proporciona una fuente de alimentación dual (no mostrado), la cual es capaz de suministrar tanto una

corriente pesada pulsada para acondicionado del crisol, así como una corriente baja constante para la carga del radionucleido (véase la **Tabla II**). Del mismo modo, se proporciona una bomba peristáltica capaz de bombear fluido a través de la celda a un índice alto durante el acondicionado de la corriente pulsada del crisol, así como una velocidad lenta durante la carga del radionucleido (véase la **Tabla II**).

5 **[0056]** Como el tratamiento de acondicionamiento del crisol produce un calor considerable, un flujo de aire de enfriamiento es proporcionado sobre la superficie exterior de la superficie del crisol. El aire es aspirado a través de la cámara del concentrador mediante una pequeña bomba eléctrica.

10 **[0057]** Las condiciones adecuadas para el acondicionado del crisol y la carga se muestran en la siguiente **Tabla II**.

Tabla II

Acondicionado del Crisol		
Parámetro	Valor Preferido	Rango Permitido
Duración	30 min.	25 -45 min.
Altura de Pulso	600 mA	500 -750 mA
Ancho de Pulso	1.5 milisegundos	1,0 -2,0 milisegundos
Volumen Salino	2,5 ml	1,5 -3,5 ml
Caudal Salino	70 ml / hora	50 -90 ml / hora
Carga del Crisol		
Parámetro	Valor Preferido	Rango Permitido
Duración	45 min.	30 -50 min.
Corriente Constante	80 mA	50 -100 mA
Volumen de Fluido	2,5 ml	1,5 -3,5 ml
Índice de flujo de fluido	5 ml / hora	3 -8 ml / hora

15 Descripción Completa del Proceso

[0058] El acondicionado y carga del crisol se hace en tres pasos;

- 20
1. Tratamiento de hidrocarburo del crisol para hacer el espacio interno de la matriz de grafito hidrofóbico y por lo tanto reducir tránsito de solución salina a través del cuerpo del crisol durante la carga.
 2. Acondicionado electrolítico para agrandar el área de superficie efectiva del grafito.
 3. Carga electrolítica de isótopo sobre la superficie de la cavidad del crisol.

25 **[0059]** Los primeros dos pasos se pueden realizar al menos dos o tres días antes de que se necesite el crisol.

Tratamiento de Hidrocarburo

[0060]

- 30
- 1) Llenar el crisol con 125 microlitros de una solución de aceite de parafina en "éter de petróleo" (por ejemplo 50 microlitros de aceite de parafina por 100 ml de éter de petróleo).
 - 2) "secar" con cuidado el crisol con aire ascendente 10 cm por encima de un plato caliente.

35 Acondicionado Electrolítico

[0061]

- 40
- 1) Colocar el crisol al revés entre las dos aberturas en el borde del concentrador, de manera que la cavidad del crisol se coloque sobre el disco de sellado. La cavidad se coloca sobre la entrada y la salida para el flujo de solución salina y el ánodo de platino que es concéntrico con la entrada de solución salina. Un extremo del crisol hace contacto eléctrico con un alambre de platino en una abertura del borde de Teflón.
 - 2) Colocar cuidadosamente la tapa del concentrador por encima del borde, atornillarla y luego apretar suavemente el tornillo blanco de presión central que presiona las paredes de la cavidad del crisol en el disco de sellado.
 - 3) Introducir 3,0 ml de solución salina en el circuito de la bomba a través de una unión en T usando una jeringa. Encender la bomba peristáltica y ajustarla de manera que la solución salina circule a 70 ml por hora.
- 50

- 4) Iniciar el enfriado con aire para el crisol mediante el encendido de la bomba de aire, el cual aspirará aire a través de la cámara del concentrador.
- 5) Encender la fuente de alimentación DC pulsada y ajustar la corriente máxima a 600 mA.
- 6) Ajustar el temporizador a 30 minutos. Al terminar detener la corriente y las dos bombas, desmontar.

Carga Electrolítica de Isótopos

[0062]

- 1) Preparar el líquido de carga con eluato de solución salina Tc99m (80 %) y etanol (20 %) para obtener un volumen de por ejemplo 2,5 ml. Medir la radioactividad utilizando un calibrador de dosis.
- 2) Montar el crisol acondicionado y la tapa en el concentrador como anteriormente.
- 3) Introducir la solución de isótopos en el circuito de la bomba con una jeringa blindada conectada a través de la válvula en T. Ajustar la velocidad de flujo a 5 ml por hora.
- 4) Encender la bomba de circulación de aire para extraer el aire de refrigeración a través de la cámara del concentrador.
- 5) Encender la fuente de alimentación DC de corriente constante y ajustar a 80 mA.
- 6) Ajustar el temporizador a 45 min. Al terminar, apagar la fuente de alimentación, la bomba peristáltica y la bomba de circulación de aire. Desmontar y medir la radioactividad del crisol cargado utilizando un calibrador de dosis.

Resultados

[0063] Los resultados para 105 preparaciones FibrinLite utilizando el primer concentrador electrolítico ('condiciones del concentrador MkI') y 19 preparados utilizando el segundo concentrador electrolítico ('condiciones del concentrador MkII') se muestran en los dos gráficos en la **Figura 15**.

[0064] En particular, la **Figura 15** muestra la contaminación de pertechnetato en preparaciones FibrinLite antes (gráfico superior) y después (gráfico inferior) del autoclave en condiciones de carga del crisol con el concentrador MkI y MkII.

[0065] La contaminación de pertechnetato en el líquido precipitador FibrinLite se muestra en el gráfico superior de percentiles de la **Figura 15** y la contaminación de pertechnetato en FibrinLite autoclavado se muestra en el gráfico inferior de la **Figura 15**.

[0066] Las condiciones del concentrador MkI utilizando el primer concentrador electrolítico produjeron líquido precipitador FibrinLite con una mediana contaminación de pertechnetato del 0,82 % (rango intercuartil (IQR) de 0,61 % a 1,2 %).

[0067] Las condiciones del concentrador MkII utilizando el segundo concentrador electrolítico produjeron una media de 0,63 % (IQR de 0,4 % a 0,9 %). Una prueba de Mann-Whitney mostró que hubo una reducción significativa en la contaminación de pertechnetato usando las condiciones del MkII ($p = 0,019$).

[0068] Esta diferencia fue mucho mayor cuando se midió la contaminación de pertechnetato en FibrinLite después del tratamiento en autoclave. El FibrinLite autoclavado producido al usar las condiciones del concentrador MkI mostró una contaminación mediana de pertechnetato del 4,6 % (IQR 3,35 % a 6,93 %), mientras que para el FibrinLite autoclavado en MkII la mediana fue de sólo 2,63 % (IQR 1,93 % a 4,71 %). Una prueba de Mann-Whitney mostró que hubo una reducción altamente significativa en contaminación de pertechnetato en FibrinLite autoclavado hecho usando las condiciones del concentrador MkII ($p = 0,0008$).

Paso 2: Precalentado del crisol cargado (22)

[0069] Sorprendentemente se ha encontrado que un paso de precalentamiento cuidadosamente controlado después de la carga del crisol y anterior a la generación de partículas tiene un marcado efecto sobre la naturaleza de las nanopartículas que posteriormente hayan sido sometidas a plasma por ablación en el crisol a una temperatura superior y por lo tanto, se considera un paso importante. Durante el paso del precalentamiento un portador, por ejemplo cloruro sodico, se elimina preferiblemente por evaporación en un flujo de gas inerte, por ejemplo argón, en una temperatura adecuada y durante un tiempo predeterminado de acuerdo con la necesidad. Se encontró que las condiciones descritas en la siguiente **Tabla III** son adecuadas para el cloruro sodico. Para otros portadores, el

protocolo puede ser seguido con la variación adecuada del tiempo de subida y la temperatura. El punto de ebullición del portador debe ser menor que el rango de temperatura que conducirá a la pérdida del isótopo desde el crisol.

Tabla III

	Variable	Rango	Valor Preferido
Precalentamiento del crisol y eliminación de sal	Purga de argon en cámara de crisol - velocidad del flujo	6-14 litros/min.	8 litros/min.
	Purga de argón en cámara de crisol - duración	3-10 min.	6 min.
	Tiempo de subida de temperatura del crisol de temperatura ambiente a evaporación, ej. 1.685 ° C	0.5-1.5 seg.	1.25 seg.
	Temperatura de evaporación de cloruro sodico en crisol	1200-1800 ° C	1685 ° C
	Duración de evaporación de cloruro sodico en crisol	5-25 seg.	15 seg.

[0070] Las condiciones adecuadas se dan en la **Tabla III**, a saber 1.685 ° C durante 15 segundos. La evaporación del cloruro sodico por calor y purga por gas inerte del crisol se lleva a cabo preferiblemente en un dispositivo adecuadamente modificado del tipo que previamente ha sido descrito en 5.064.634 EE.UU.

[0071] En concreto no se apreciaba anteriormente que la duración del paso de precalentamiento afecta:

1. Las emisiones de carbono del crisol durante la ablación con plasma.

[0072] Un paso de precalentamiento del crisol durante al menos 5 segundos a una temperatura por encima del punto de ebullición de cloruro sodico (por ejemplo 1.685 ° C) pero por debajo de la temperatura usada para inducir plasma termiónico (por ejemplo 2.750 ° C) se encontró que reducía notablemente la cantidad de carbono libre posteriormente sometido a ablación en el crisol. Un paso de precalentamiento adecuado resulta en una dispersión de nanopartículas acuosa que es casi ópticamente transparente y facilita la filtración para obtener fracciones de nanopartículas de conocidos intervalos de tamaño adecuados para su uso como producto inyectable

2. Niveles de contaminación de pertecnetato de la dispersión de nanopartículas.

[0073] Un paso de precalentado del crisol durante al menos 5 segundos también produce una reducción significativa en el nivel de marca de pertecnetato soluble en agua contaminando la dispersión de nanopartículas. Se encontró que las nanopartículas producidas después del precalentamiento suficiente del crisol tienen una mayor estabilidad ante la esterilización por calor, es decir, menos marca de pertecnetato libre se libera en la solución de estas suspensiones de nanopartículas durante el autoclavado. La **figura 5** ilustra un gráfico de diversas curvas de diferente duración del precalentamiento y el efecto de la duración del precalentamiento del crisol en el nivel de contaminación de pertecnetato en la dispersión de nanopartículas final después del autoclavado. Mientras que hay un valor de contaminación de pertecnetato libre después de que se trataron con autoclave las preparaciones de diferentes crisoles, este valor disminuye con el aumento de los tiempos de precalentamiento hasta períodos de 15 segundos.

3. Tamaño de las nanopartículas producidas.

[0074] Se encontró que el precalentamiento prolongado del crisol durante por ejemplo 20 segundos, aumenta la proporción de radiomarcador presente en fracciones de partículas más pequeñas, concretamente por debajo de 450 nm. La **figura 6** ilustra gráficos resultantes que muestran el efecto de la duración del precalentamiento del crisol en el tamaño de las nanopartículas producidas, medidas como el porcentaje de radiactividad que pasa a través de filtros de membrana hidrófilos que tienen valores de corte como se ha mostrado. Las distribuciones del radiomarcador se muestran 60-62 en tres fracciones de filtro a partir de preparaciones de nanopartículas producidas de forma independiente a partir de cinco crisoles diferentes utilizando períodos de precalentamiento de 15 y 20 segundos.

Paso 3: Producción de partículas (25)

[0075] El crisol pretratado del paso 2 fue sometido a calentado relámpago de acuerdo con el perfil de calentamiento que se establece en la figura 7 a 2.740-2.790 ° C (71) durante 3 segundos por medio de un dispositivo servo electrónico que produjo un perfil de calentamiento del crisol fuertemente regulado presentando un tiempo de subida rápida 72 (por ejemplo 0,3 segundos) seguido por una estabilidad plana 71 manteniendo por ejemplo 2.765 ° C $\pm$ 15 ° C sobre el periodo de calentamiento predeterminado. Estas condiciones pueden ser producidas mediante la modificación del controlador electrónico del dispositivo de la 5.064.634 EE.UU. El régimen de calentamiento difiere de la 5.064.634 EE.UU. en que la 5.064.634 EE.UU. menciona sólo brevemente el calentamiento resistivo a 2.200 ° C de un crisol de carbono que contiene un radionúclidos sólido, mientras que el régimen de calentamiento descrito en este documento incluye el precalentamiento del crisol y la extracción del portador antes de la emisión de nanopartículas y que la temperatura durante la inducción de plasma termiónico y la ablación de partículas se

mantiene firmemente en un rango de temperatura considerablemente mayor, tal y como se indica en la siguiente Tabla IV de condiciones idóneas:

Tabla IV

Componente del Proceso	Parámetro	Rango	Valor Preferido
Ablación con plasma	Tiempo de aumento de temperatura del crisol para ignición con plasma	0,3-0,7 seg.	0.4 seg.
	Temperatura del crisol para ablación con plasma	2.700-2.800 ° C	2.765 ° C
	Duración de ablación con plasma	2.5 a 3.5 seg.	3.2 seg.

[0076] La figura 7 muestra un perfil térmico real para ablación de plasma AC regulada de un crisol de grafito a 2.800 ° C durante 2,5 segundos. Note el rápido aumento del tiempo 72 (0,3 segundos) para alcanzar la temperatura de ablación completa.

[0077] La temperatura se midió utilizando un pirómetro óptico calibrado.

Paso 4: Captura de partículas en agua (24)

[0078] Como se ilustra en la figura 1, las partículas de vapor emitidas por el calentado relámpago del crisol 2 son llevadas inmediatamente afuera en una corriente de argón 4 a un precipitador electrostático sonificado 5 cargado de agua pura que contenga sólo una concentración de surfactante muy baja, por ejemplo 10 micromolares de desoxicolato sodico. Note que este surfactante es aprobado por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) de EE.UU. para su uso en inyecciones intravenosas. El precipitador puede ser como se describe en la 5.792.241de EE.UU. y se muestra esquemáticamente en la figura 8.

[0079] El precipitador puede manejarse de acuerdo con la siguiente **Tabla V**:

Tabla V

Variable	Rango	Valor Preferido
Alta tensión aplicada a aguja de platino de fuente de ion (ánodo)	corriente 5-10 kV y limitada a 15 µA	fuga 8 kV mantenida a 8 µA
Frecuencia de sonificador de cristal	1.4 a 1.7 MHz	1.7 MHz
Nivel de potencia del sonificador	10-40 W	20 W
Flujo de argón a través del precipitador	3-6 l / min.	4 L / min.
Volumen de agua	2,0 -3,0 ml	2,8 ml
Concentración de surfactante, ej. desoxicolato sodico	2-20 µM	10 µM

[0080] Este tipo de precipitador puede ser utilizado para dispersar las nanopartículas emitidas desde el crisol en una dispersión acuosa estable. Un surfactante puede ser añadido al agua para aumentar la estabilidad de la suspensión, pero sólo deben emplearse unas condiciones de fuerza iónica muy bajas (por ejemplo menos de 100 micromolares). Otros surfactantes podrían emplearse si son adecuados para la inyección intravenosa en humanos. La dispersión puede ser farmacéuticamente aceptable (particularmente cuando se usa para humanos) o puede ser veterinariamente aceptable si está destinada a la inyección en un animal.

Paso 5: Formulación de nanopartículas para inyección (25)

[0081] Se ha encontrado que la estabilidad de la dispersión de nanopartículas final en agua depende de la fuerza iónica y el pH. La adición de electrolitos a nanopartículas en concentraciones finales superiores a unos cuantos milimolares resulta en una rápida agregación de nanopartículas, como se evidencia por un marcado aumento en la retención de marcador radiactivo por un filtro de membrana hidrófila de 450 nm. Ejemplos de resultados se muestran de la **figura 9** a la **figura 11**, con la **figura 9** mostrando el efecto de la concentración de cloruro sodico en la filtración de nanopartículas en membranas de éster mixto de celulosa (MCE) utilizando un filtro con un corte nominal de 450 nm, la **figura 10** muestra el efecto de tris-acetato y concentración de glucosa en la filtración de nanopartículas en membranas MCE y la **figura 11** muestra el efecto de la concentración de sodio dihidrógeno citrato en la filtración de nanopartículas en membranas MCE. La adición de no electrolitos, por ejemplo glucosa, no induce a la conglomeración y por lo tanto pueden ser utilizados para proporcionar una formulación isoosmolar para inyección intravenosa si se desea.

[0082] También se encontró que la integridad de las nanopartículas dependía de mantener un pH ligeramente ácido, por ejemplo 4,0 pH. Se encontró que esto era particularmente importante durante el autoclave con el fin de

minimizar la liberación de pertecnetato libre. La **figura 10** muestra los niveles de contaminación de pertecnetato libre que se encontraron después del autoclave de preparaciones de nanopartículas a 4,0 pH y 10 pH. La imagen muestra el efecto del pH sobre la estabilidad de las nanopartículas durante 20 minutos de autoclave a 121 ° C medido como liberación de pertecnetato libre (método TLC). Los valores de pertecnetato libre se muestran en el gráfico de percentiles para partículas no autoclavadas (Pertech %), partículas autoclavadas (Autoclave Pert %) partículas autoclavadas con tampón de 4,0 pH (P % Autocl 4,0 pH) y partículas autoclavadas con tampón de 10,0 pH (P % Autocl 10,0 pH).

[0083] Por lo tanto un método de formulación de nanopartículas puede incluir la adición de una concentración muy baja de un tampón acidicamente débil para la dispersión de nanopartículas inmediatamente después de la recolección desde el precipitador, por ejemplo una concentración final de 300 micromolares de sodio dihidrógeno citrato a 4,1 pH.

[0084] La **figura 6** ilustra la distribución del tamaño de partículas en la radiactividad de preparaciones de nanopartículas hechas usando cinco diferentes crisoles y con una duración de precalentamiento de 15 segundos y 20 segundos. Las fracciones se obtuvieron utilizando filtros de membrana MCE hidrófilos. Note que una mayor proporción de radiactividad pasa a través de los filtros cuando las nanopartículas son producidas después del precalentamiento de crisoles cargados durante 20 segundos. La mayor parte de radiactividad está presente en partículas de menos de 450 nm de diámetro y es preferible que esta fracción sea usada como formulación rutinaria de nanopartículas para inyección intravenosa.

Control de Calidad para el Producto de Nanopartículas

[0085] El nivel de contaminación de pertecnetato en preparaciones de nanopartículas se mide de forma cómoda y rápida por cromatografía en capa fina (TLC) utilizando gel de sílice como fase estacionaria y por ejemplo metiletilcetona (MEK) o solución salina fisiológica normal como la fase móvil. La radiactividad restante en el origen proporciona una medida de radiactividad inmóvil presente en las partículas, mientras que la radiactividad frente de migración da una medida de pertecnetato libre que puede ser expresada como un porcentaje de la radiactividad total aplicada a la TLC. Los valores típicos para la contaminación de pertecnetato en el líquido precipitador y nanopartículas tratadas en autoclave son < 1,5 % y < 5 % respectivamente tal y como se ilustra en la **figura 12**.

[0086] Sin embargo, no sólo el pertecnetato libre sino también especies hidrolizables, tales como carburo de tecnecio, pueden ser contaminantes de los aerosoles y dispersiones de nanopartículas. Así, la diferencia entre pertecnetato libre presente en dispersiones de nanopartículas después del autoclave a 4,0 pH y el autoclave a 10,0 pH es una medida útil de contaminantes marcados con isótopos hidrolizables. El nivel total de especies que no nanopartículas tales como el pertecnetato debe ser inferior al 7 % de la radiactividad total.

Fraccionamiento por tamaño mediante filtros de membrana hidrofílica

[0087] Las suspensiones de nanopartículas formuladas con un surfactante adecuado, por ejemplo 10 micromolares de desoxicolato sodico, pueden ser filtradas a través de filtros de jeringa que contengan membranas hidrófilas hechas de, por ejemplo, éster mixto de celulosa (MCE) y tener tamaños de poros conocidos, por ejemplo 450 nm.

[0088] La mayor parte de radiactividad presente en las nanopartículas formuladas debe pasar a través de un filtro de jeringa de 450 nm del tipo MCE. La proporción de radiomarcador que pasa a través de esta membrana está relacionada con la duración del paso de precalentamiento del crisol.

Estabilidad de Dispersiones FibrinLite - Adiciones de Solutos

[0089] La adición de electrolitos a las nanopartículas provoca la neutralización parcial de carga de la partícula y la conglomeración de las nanopartículas, evidente como un marcado aumento en la retención de marcador radiactivo mediante filtros de membrana hidrofílica. Por lo tanto, cuando las nanopartículas se diluyen en solución salina fisiológica (150 mM cloruro sodico), las partículas radiactivas pueden ser prácticamente eliminadas cuantitativamente por un filtro de membrana de 450 nm tal como se muestra en la figura 6. Sólo son necesarios 7-10 mM de cloruro sódico para causar un 50 % de retención por este filtro de porosidad. Se observaron efectos similares con tris-acetato (7,5 pH; 50 % de retención a 15 mM; Figura 10) y tampones de ácido citrato (4,0 pH; 50 % de retención a 3 mM: Fig. 11), mientras que un no - electrolito, por ejemplo glucosa, podría añadirse hasta una concentración isoosmolar, es decir, un 5 % sin causar conglomeración significativa de las nanopartículas (**Fig. 10**). Las nanopartículas no se conglomeran por el desoxicolato de sodio en concentraciones de hasta 1 mM, es decir, 100 veces la concentración elegida para el uso rutinario como un surfactante en el precipitador (datos no mostrados).

[0090] La adición de poliones a nanopartículas revela una marcada diferencia en la respuesta en función de la carga del polión. Si las nanopartículas son tratadas con un polication soluble como sulfato de protamina, las partículas son cuantitativamente conglomeradas y eliminadas por un filtro de 450 nm, incluso a concentraciones de protamina muy bajas, por ejemplo 0,4 microgramos por ml. Esto es probablemente debido a la correlación de la nanopartículas por el polication. Por el contrario, si las nanopartículas son tratadas con un polianión soluble como el

sulfato de dextrano, entonces la retención de las partículas radiactivas por un filtro de 450 nm no se ve incrementada, incluso en concentraciones relativamente altas de polianión, por ejemplo 100 microgramos por ml.

REIVINDICACIONES

1. Un método de formación de una composición inyectable radiactiva, comprendiendo dicho método los pasos de:
 - (a) depositar una forma sólida de isótopo radiactivo y portador en un crisol de carbono;
 - (b) precalentar la forma sólida de isótopo radiactivo y portador para retirar el portador;
 - (c) ablación con plasma de partícula radiactiva y porciones del crisol de carbono, en que dicho precalentamiento este sustancialmente en el rango de 1.200 a 1.800 grados Celsius durante sustancialmente 5 a 25 segundos.
2. Un método como se reivindica en la reivindicación nº 1, en que dicha partícula radiactiva contiene tecnecio.
3. Un método como se reivindica en la reivindicación nº 1, en que dicho portador contiene cloruro sodico.
4. Un método como se reivindica en la reivindicación nº 1, en que dicho precalentamiento es suficiente para evaporar el portador pero insuficiente para la ablación del isótopo radiactivo que contiene especies.
5. Un método como se reivindica en la reivindicación nº 1, en que dicho precalentamiento es sustancialmente a 1.685 grados Celsius.
6. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 5, en que el tiempo de subida de dicho precalentamiento desde la temperatura ambiente hasta sustancialmente 1.685 grados Celsius se produce entre 0,4 a 1,5 segundos.
7. Un método como se reivindica en la reivindicación nº 6, en que dicho tiempo de subida es sustancialmente de 1,25 segundos.
8. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 7, en que dicho método se hace funcionar en una atmósfera de argón.
9. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 8, en que dicha ablación con plasma se produce a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 2.740 a aproximadamente 2.790 ° C.
10. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 9, en que dicha ablación se produce a aproximadamente 2.765 grados Celsius.
11. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 10, en que dicha ablación con plasma es durante sustancialmente de 02.05 a 03.05 segundos.
12. Un método como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 11, que comprende además el paso de:
 - (d) precipitar las partículas sometidas a ablación en un precipitador electrostático sonicado.
13. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 12, en que dicho precipitador incluye agua con una baja concentración de agente surfactante.
14. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 13, en que dicho surfactante contiene desoxicolato de sodio.
15. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 14, que comprende además el paso de almacenar el material precipitado con un no-electrolito.
16. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 12, que comprende además almacenar el material precipitado en un bajo concentrado de tampón débilmente ácido.
17. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones de la n º 1 a la n º 16, en que dicho paso (a) incluye además una concentración electrolítica de una fuente de isótopos.
18. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 17, en que el crisol de carbono actúa como el cátodo de la celda electrolítica.
19. Un método como se reivindica en la reivindicación n º 18, en que el ánodo de dicha celda contiene un alambre de platino colocado en una cavidad formada por dicho crisol.

20. Un método como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además el paso de fraccionamiento por tamaño de las partículas sometidas a ablación utilizando filtración a través de membranas hidrófilas de un tamaño de poro conocido.

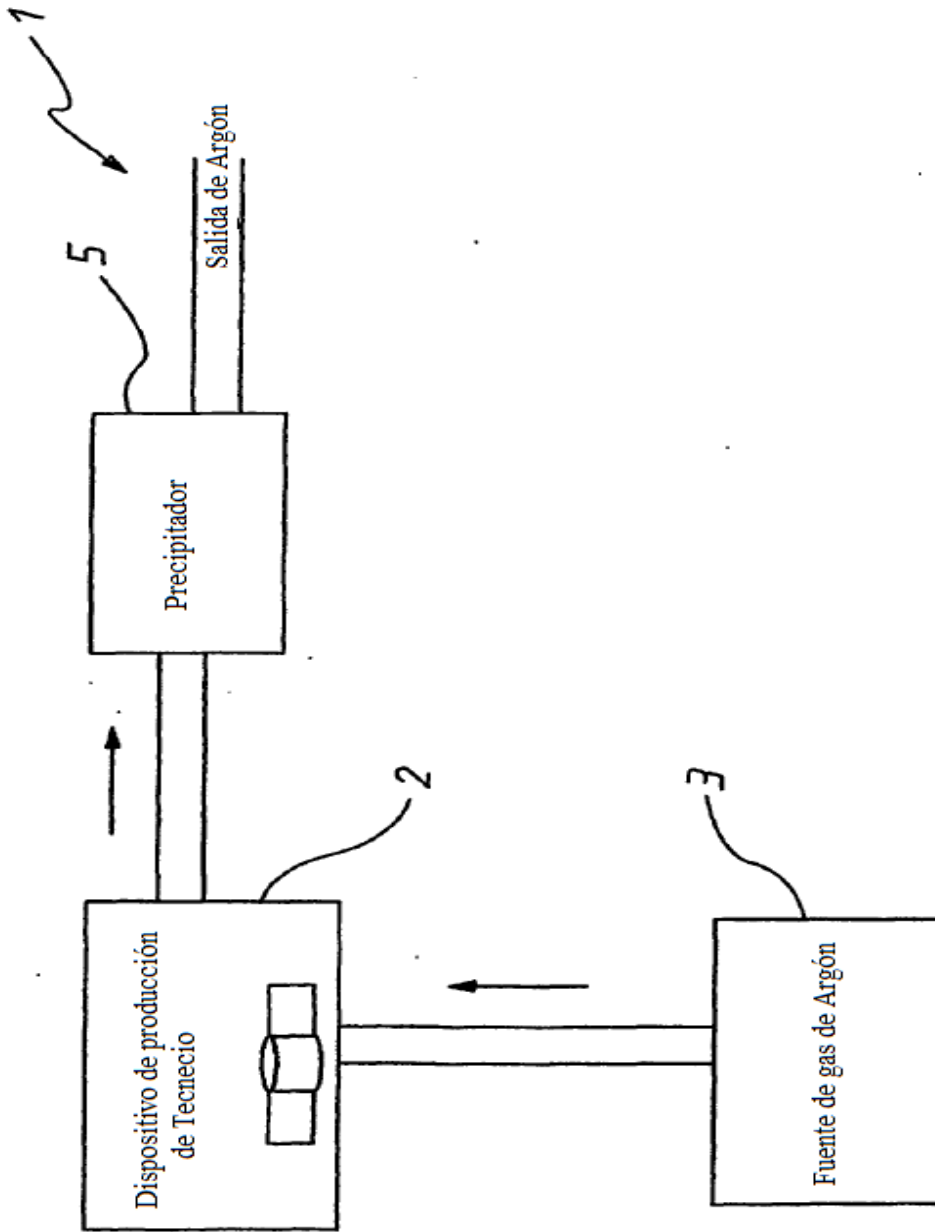


FIG. 1

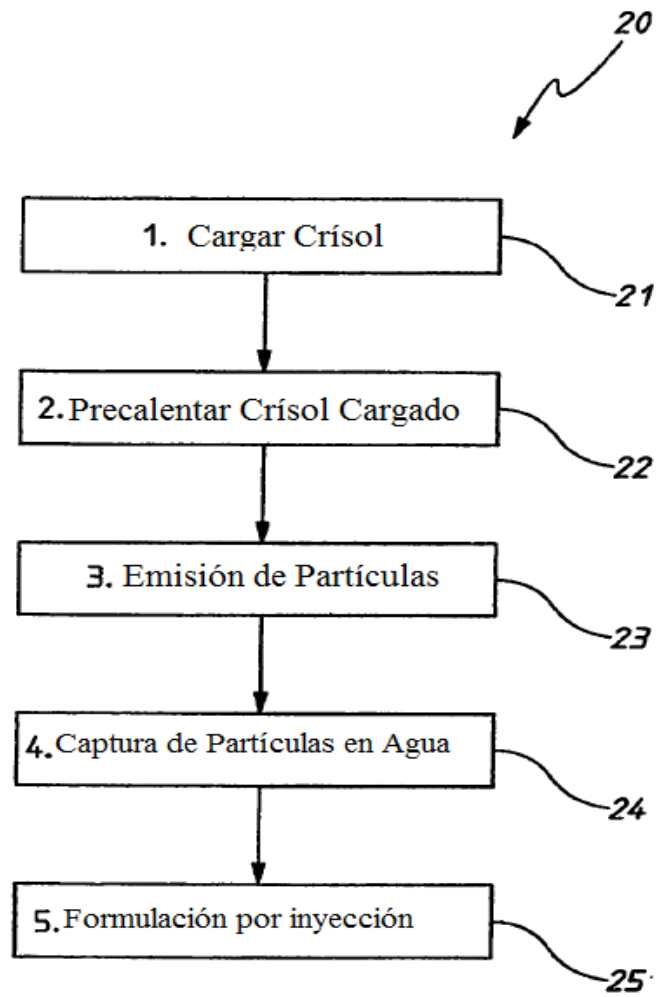


FIG.2

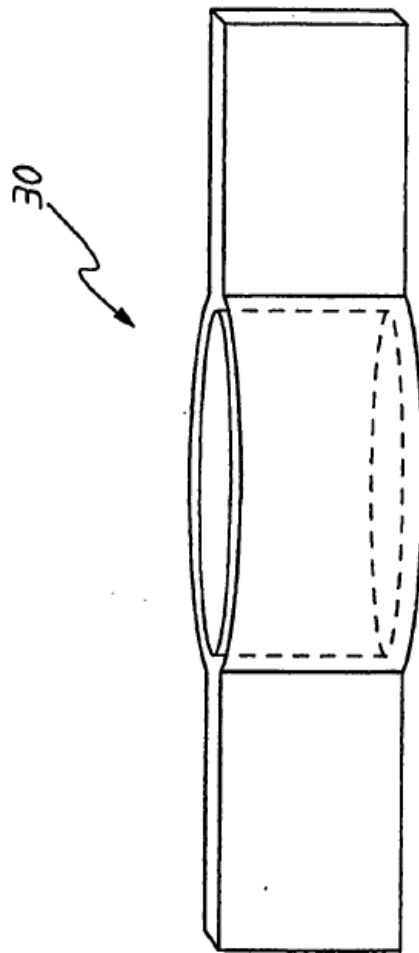


FIG. 3

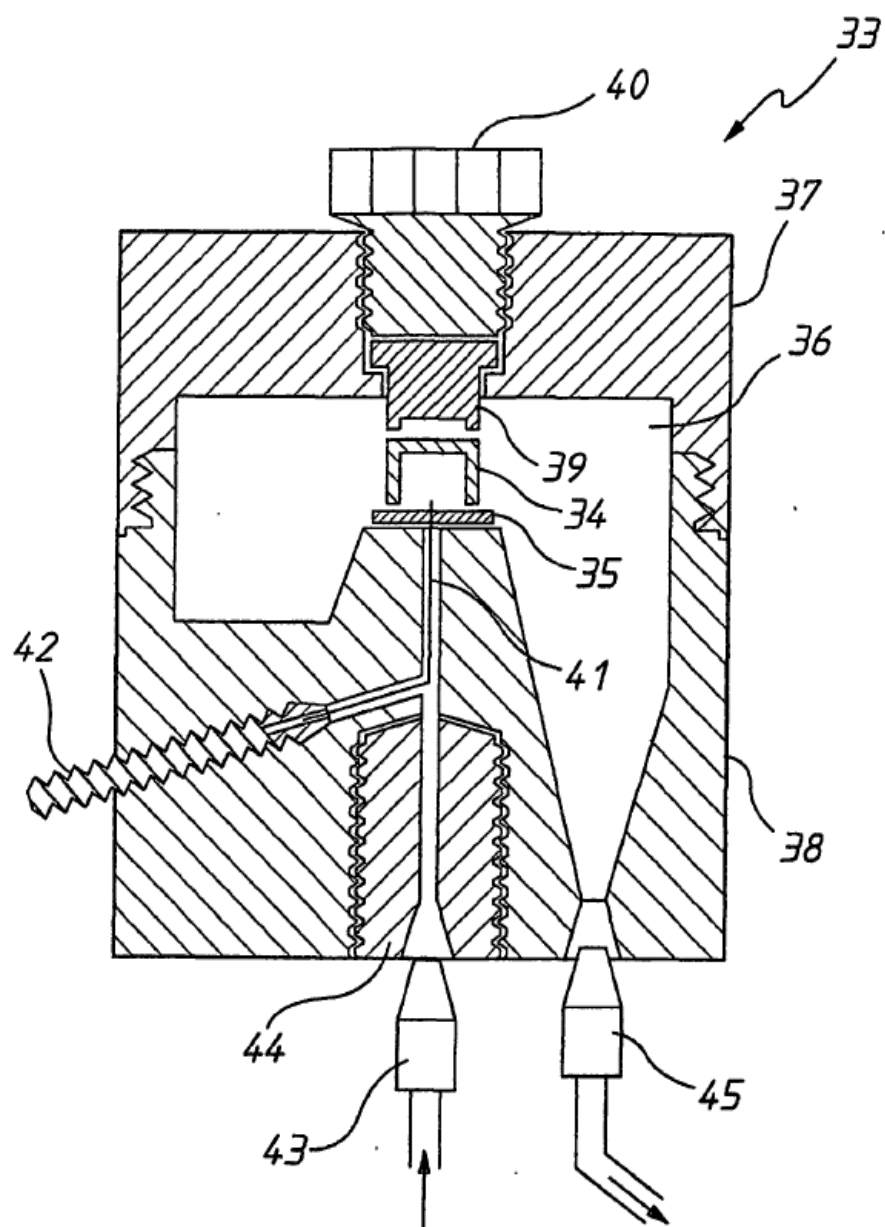
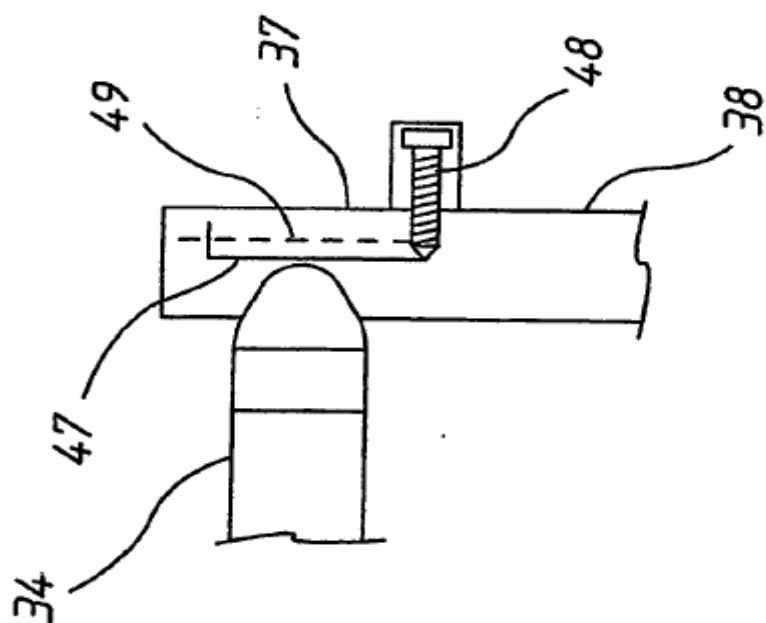
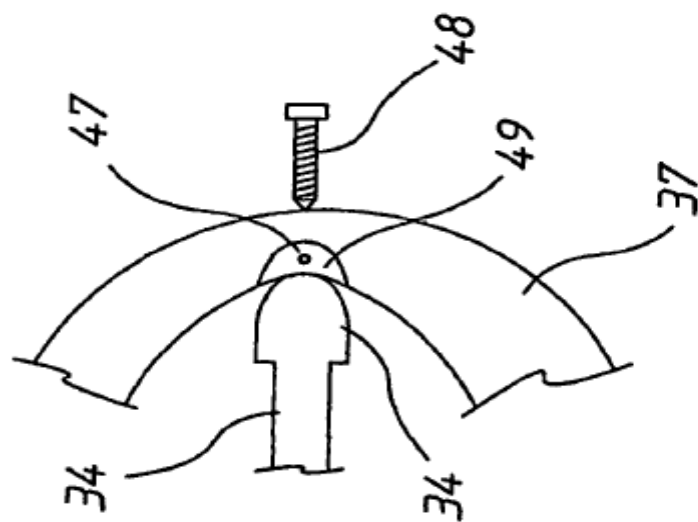


FIG.4



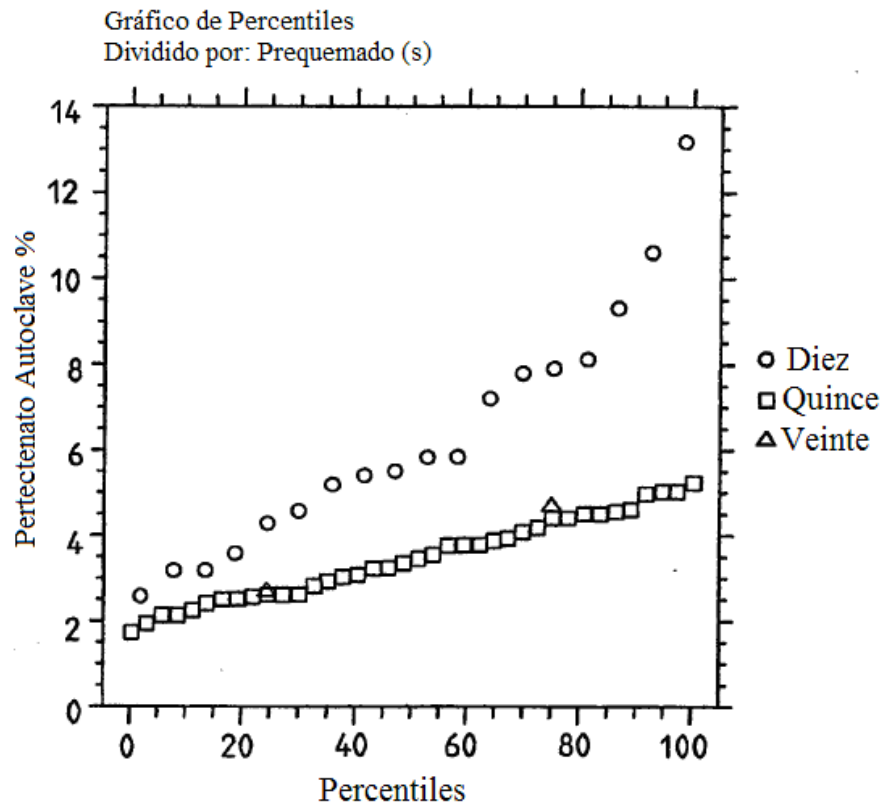


FIG.5

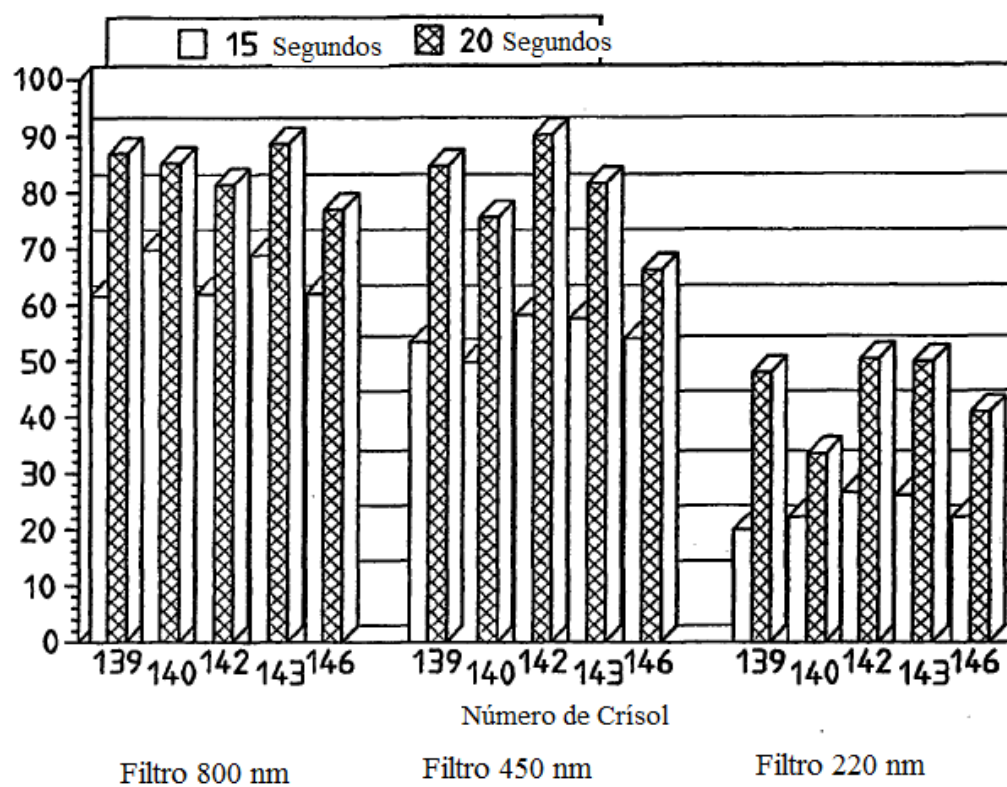


FIG.6

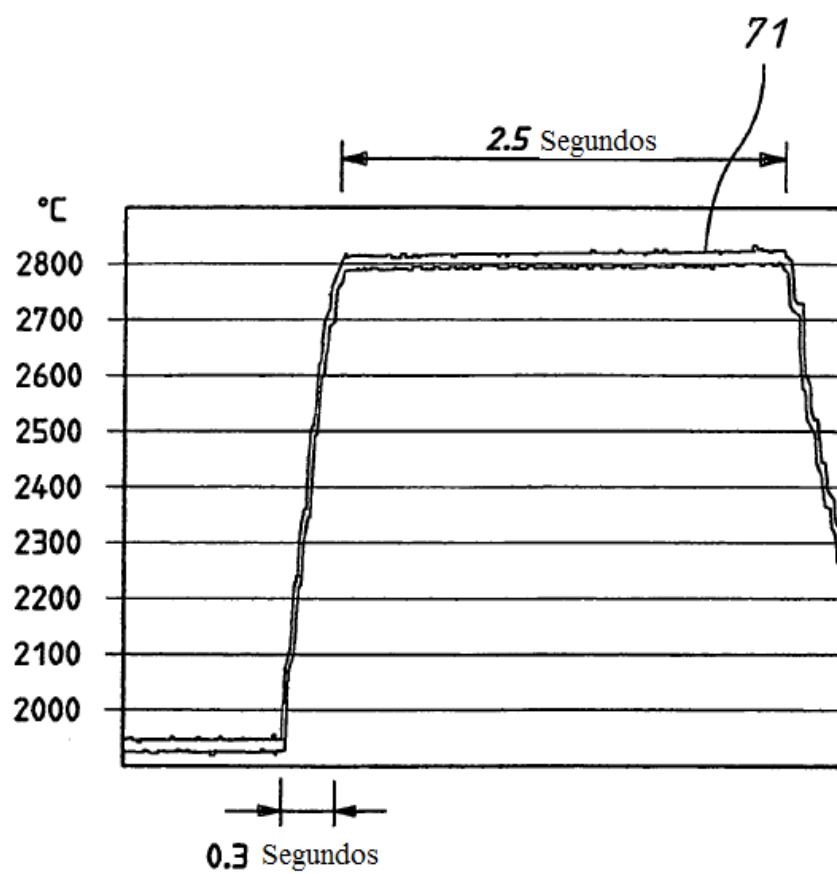


FIG.7

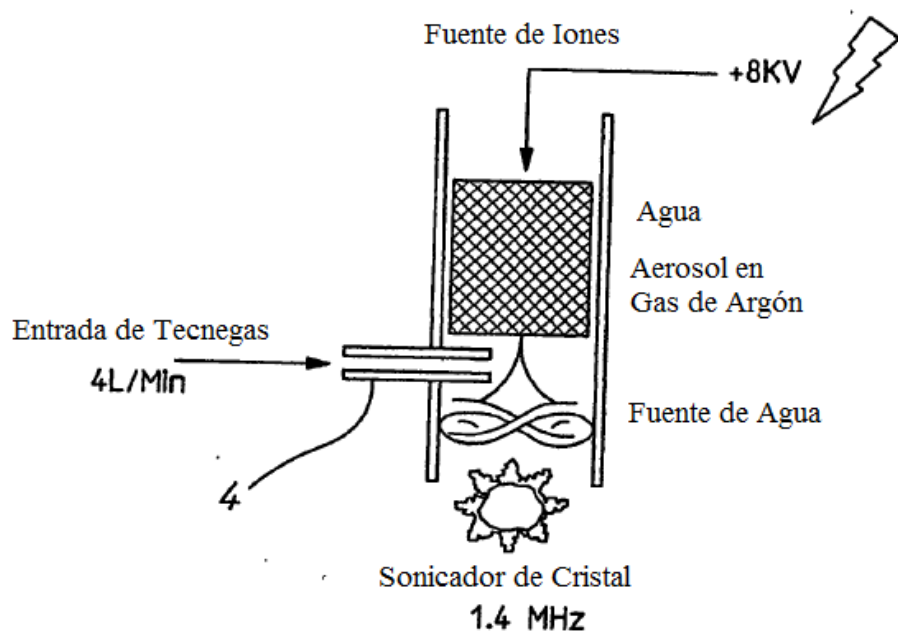
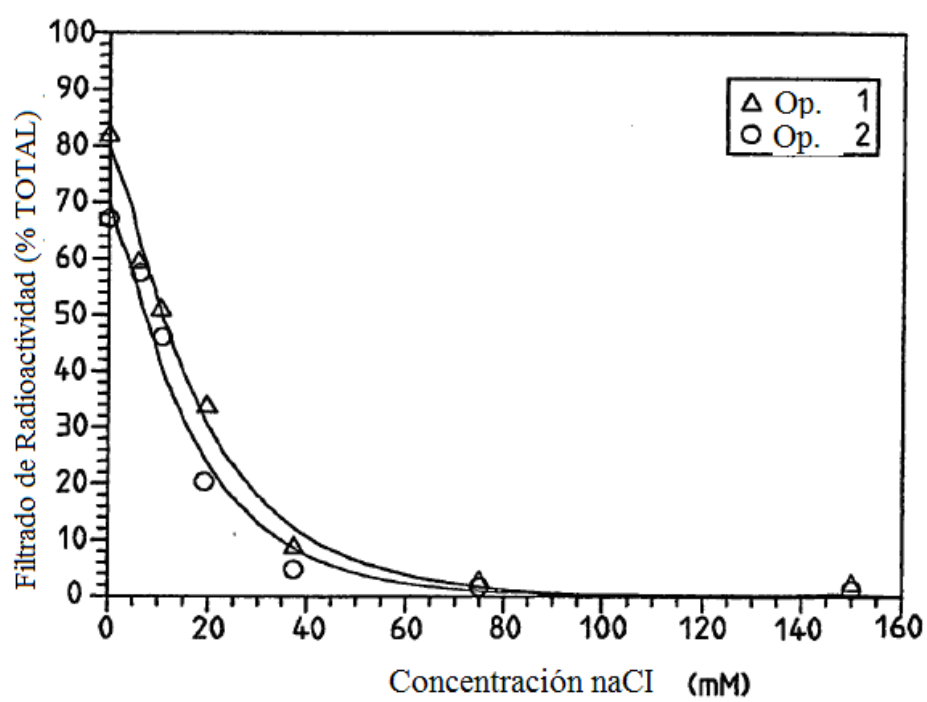


FIG.8

FIG.9

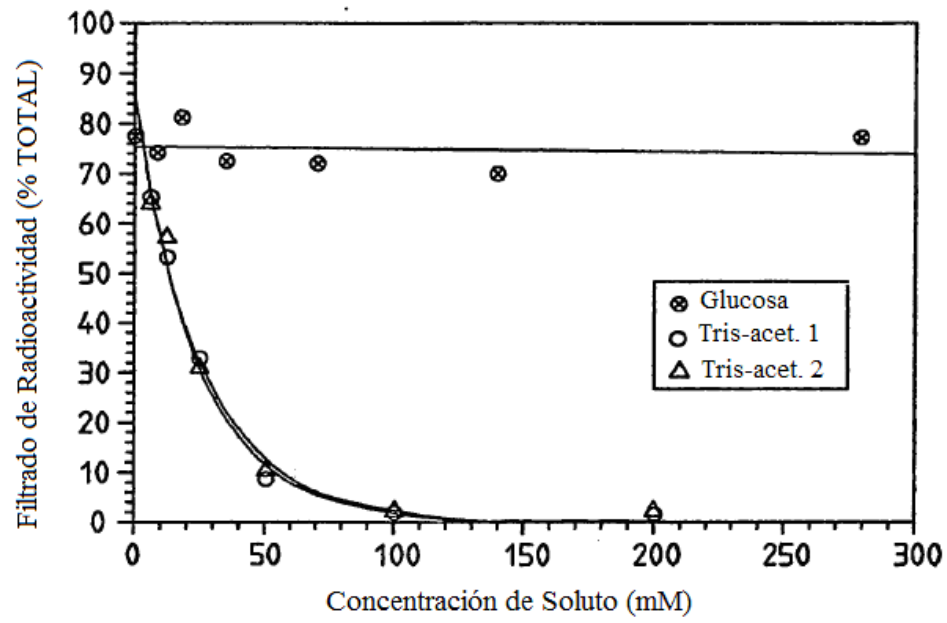


FIG. 10

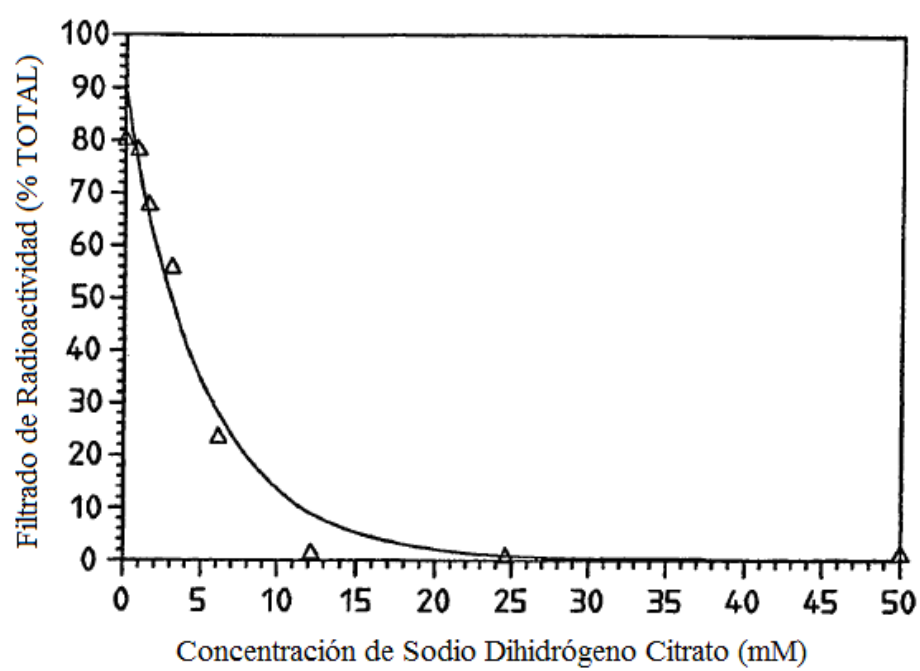


FIG. 11

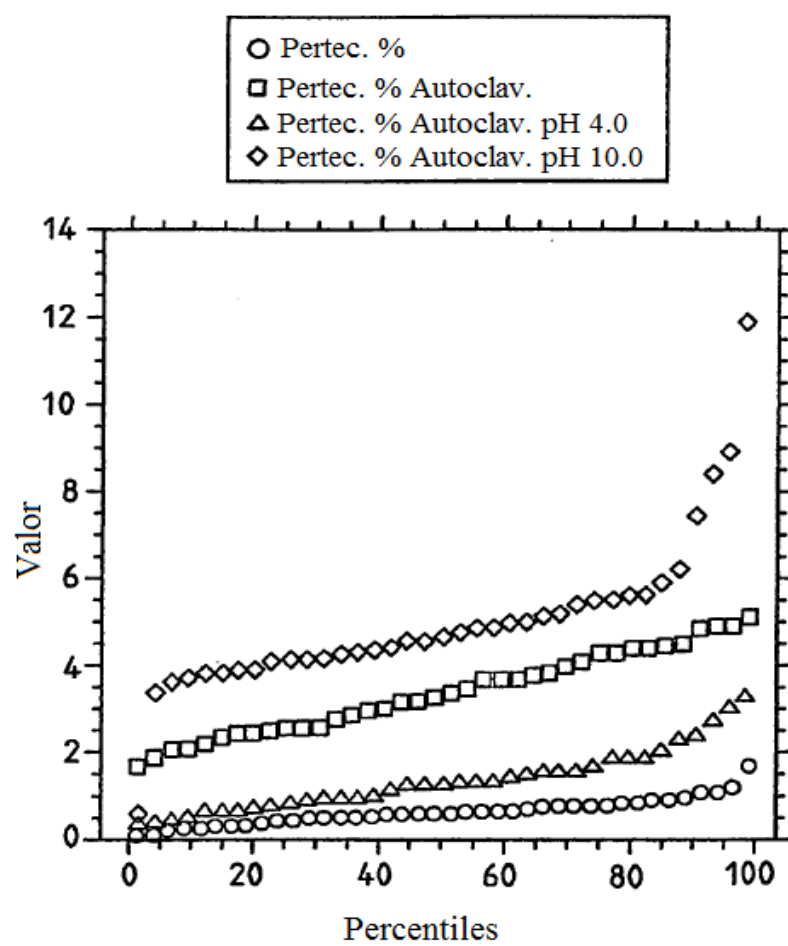
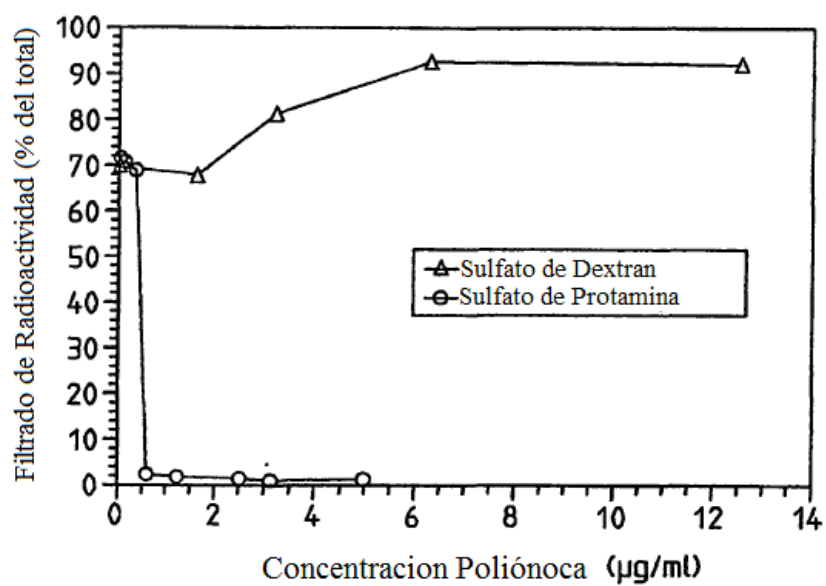


FIG. 12

*FIG. 13*

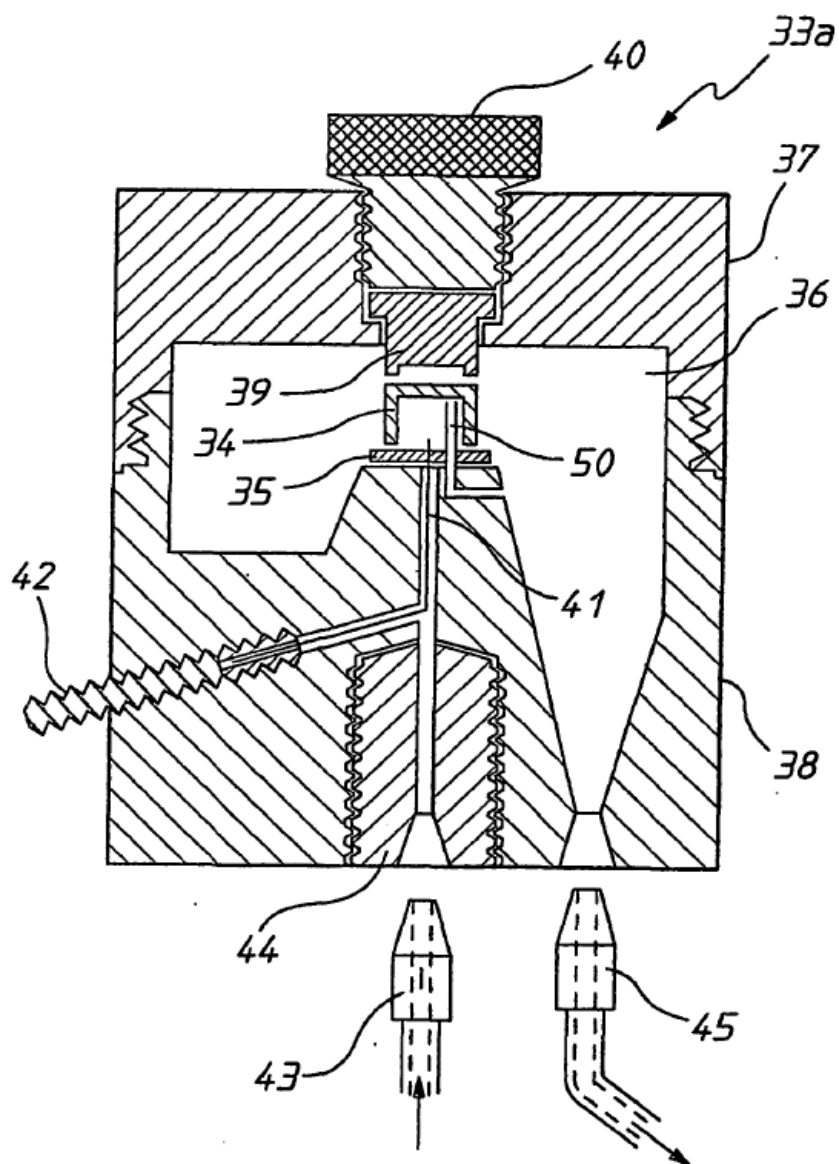


FIG. 14

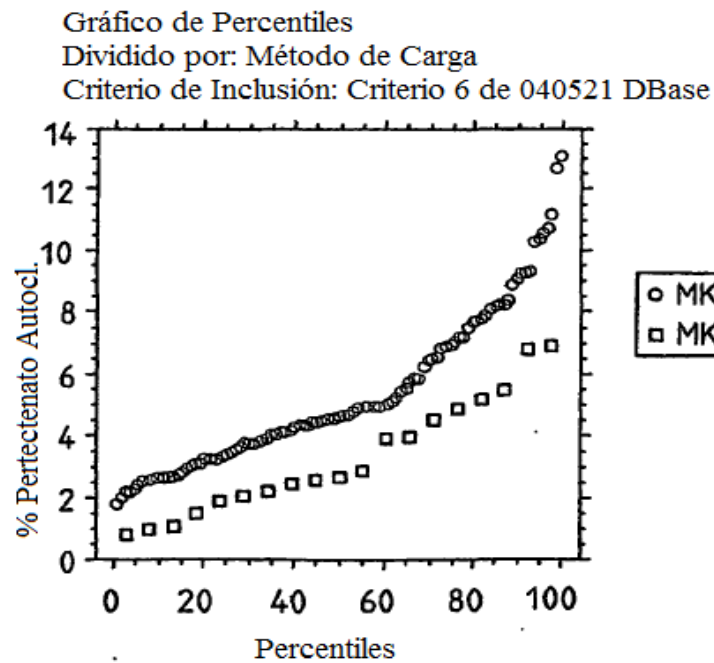
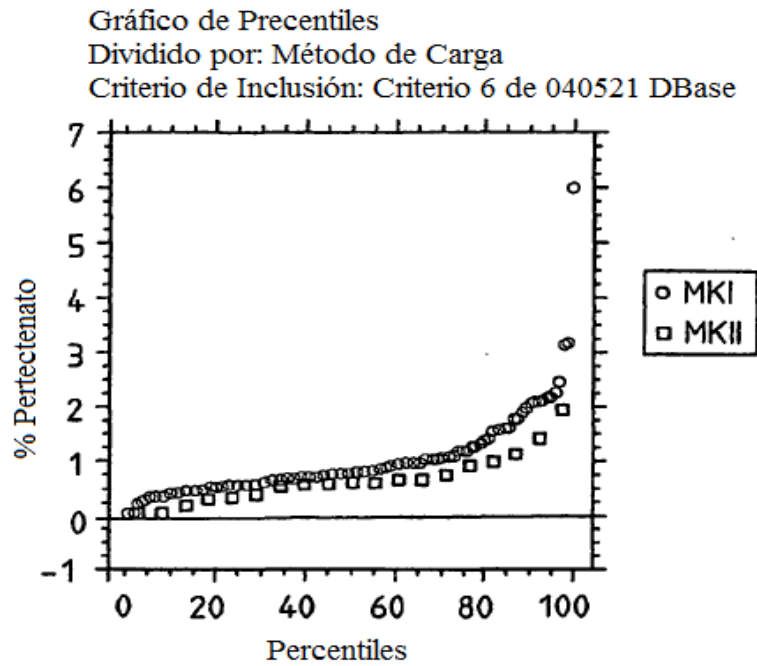


FIG. 15